壮药材火索藤的生药学研究

刘 笑^{1,2,3}, 王志萍 ^{1,2*}, 李林杰 ^{1,2}, 王昱涵 ^{1,2} · 韦松基 ¹ (1.广西中医药大学药学院 南宁 530200; 2. 广西高效中药制剂共性技术研发重点实验室 南宁 530200; 3. 广西卫生职业技术学院药学系 南宁 530023)

摘要:为建立火索藤的鉴别方法及含量测定方法,解决其真伪辨别的问题,分析其药效不一的原因,该文采用基原鉴别、性状鉴别、显微鉴别、薄层色谱法、高效液相色谱法对火索藤开展生药学研究。结果表明:(1)火索藤为多年生粗壮木质藤本,其茎、叶、花、果实表面均有红棕色茸毛分布。(2)茎横切面皮层可见大量石细胞群及晶纤维,髓部常见草酸钙簇晶、方晶;叶横切面显示其叶为异面叶,皮层可见草酸钙簇晶、方晶,韧皮部可见分泌腔断续排列成环,韧皮部外侧常见晶纤维。粉末中可见草酸钙簇晶、晶纤维、石细胞、具缘纹孔导管、非腺毛、气孔。(3)各批次火索藤 TLC 斑点与对照品金丝桃苷、落新妇苷、槲皮苷在薄层色谱图的相同位置上显相同颜色荧光。(4)落新妇苷和槲皮苷进样量分别在 0.005 888~2.355 μg(R=0.999 6)、0.039 55~1.582 μg(R=0.999 8)与峰面积呈现良好的线性关系,加样回收率分别为 96.42%、104.2%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值分别为 2.55%、1.79%。该文建立了火索藤的生药学鉴别方法和一种同时测定其中落新妇苷、槲皮苷的含量测定方法,方法简便、稳定、准确,可为该药材质量标准的制定提供依据。

关键词: 壮药,火索藤,生药学,鉴别,HPLC,金丝桃苷,落新妇苷,槲皮苷中图分类号: 文献标识码: A 文章编号:

Pharmacognostical study of Zhuang medicinal herb

Bauhinia aurea

LIU Xiao^{1,2,3}, WANG Zhiping^{1,2*}, LI Linjie^{1,2}, WANG Yuhan^{1,2}, WEI Songji¹
(1. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, 530200, China; 2.

Key Laboratory of Research and Development of General Technology of High-efficiency Chinese Medicine Preparation in Guangxi, Nanning, 530200, China; 3. Department of Pharmacy, Guangxi Medical College, Nanning, 530023, China)

Abstract: The pharmacognostical study of *Bauhinia aurea* was conducted, and identification methods and quantitative determination method were established to solve the problem of its authenticity, analyze the reasons for its different clinical efficacy. The methods of primary identification, morphological identification, microscopic identification, TLC identification and

基金项目: 广西科技重大专项(桂科 AA18126003); 广西中医药大学 2019~2021 年广西一流学科建设开放课题一般项目(2019XK116)[Supported by Special Major Project for Science and Technology of Guangxi (No. AA18126003); General Project of 2019~2021 Open Subject of First Class Discipline Construction of Guangxi University of Chinese Medicine (No. 2019XK116)]。

作者简介: 刘笑(1986-),在读硕士生,助教,研究方向为中药、民族药的新剂型、新制剂的研制与开发,(E-mail) 119733573@qq.com。

^{*}**通信作者:** 王志萍(1965-),教授,研究方向为中药、民族药的新剂型、新制剂的研制与开发,(E-mail) 3180074560@qq.com。

HPLC were used in the pharmacognostical study of B. aurea. The results were as follows: (1) It is a perennial stout woody vine with reddish brown hairs on the surface of stems, leaves, flowers and fruits. (2) A large number of stone cell groups and crystal fibers could be seen in the cortex of the transverse section of stems. The calcium oxalate cluster crystals and square crystals were scattered in the parenchyma of pith. The cross section of the leaves showed that the leaves were bifacial leaves. Calcium oxalate cluster crystals and square crystals were commonly found in the cortex. Secretory cavities were arranged intermittently into a ring in the phloem. Crystal fibers were often seen around the phloem. Calcium oxalate cluster crystals, crystal fibers, stone cells, bordered pit vessels, non-glandular hairs and stomatas could be found in the powder. (3) The spots of samples were displayed in the same color as the reference substances in the same position of the TLC figure. (4) The linear ranges of astilbin and quercitin were 0.005 888~2.355 µg (R=0.999 6) and 0.039 55-1.582 µg (R=0.999 8). The average recoveries (n=6) were 96.42% (RSD=2.55%) and 104.2% (RSD=1.79%). Pharmacognostical identification methods and a HPLC method for simultaneous content determination of two components astilbin and quercitin in B. aurea were developed. The methods are simple, stable, accurate, which can be used as the basis to set up its quality standard.

Key words: Zhuang medicinal herb, *Bauhinia aurea*, pharmacognosy, identification, HPLC, hyperoside, astilbin, quercitin

火索藤,又名红绒毛羊蹄甲、金叶羊蹄甲、合掌风、红毛藤、牛蹄藤、九龙藤、黄麻藤, 为豆科羊蹄甲属植物火索藤(Bauhinia aurea)的根或茎,《滇东南红河地区种子植物》、《广 西植物志第2卷种子植物》中亦有全株入药的记载(税玉民,2003;李树刚等,2005)。《中 国树木志第2卷》、《中华本草4》中记载其主要分布在广西、云南、贵州、四川等地(郑万 钧和中国树木志编辑委员会,1985;国家中医药管理局《中华本草》编委会,1999),是广 西特色壮药材(壮药名为"huhau",是"愈合"之意)。《中华本草 4》、《全国中草药名鉴上》中 记载其性温,味微苦、涩,具有祛风除湿,活络止痛的功效,常用于治疗风湿性关节炎、鹤 膝风、跌打损伤、胃痛、肾炎、黄疸型肝炎等(国家中医药管理局《中华本草》编委会,1999; 谢宗万和余友芩,1996)。目前对火索藤的研究报道较少,国内外的研究主要集中在该药材 的化学成分方面,仅尚小雅(2006)从其中分离鉴定了40个化合物,包括黄酮类、甾体类、 萜类、多环酚类、腈基化合物及水解产物、苯丙素类、生物碱类、芳香酸类、氨基酸类、脂 肪酸及其酯类等,未见有明确的用药品种和质量标准的相关研究。由于火索藤在民间存在同 名异物的情况,又缺乏统一的质量标准,不同地区极易出现用药混乱的现象,使得各地用药 质量不一,导致临床药效存在较大差异。因此,为了较好地控制火索藤的质量,确保该药材 的质量稳定,本文对火索藤开展生药学研究,包括基原鉴别、性状鉴别、显微鉴别、薄层鉴 别、含量测定,旨在为其质量标准的制定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材

火索藤样品分别采自广西来宾市、岑溪市、梧州市、玉林市、河池市及南宁市等 7 个不同市县或乡镇,其中采自广西来宾市兴宾区天堂乡的火索藤经广西中医药大学生药学专家韦松基教授鉴定为豆科植物火索藤(*B. aurea*)的带叶藤茎,编号 HST-1,作为对照药材,并将其茎、叶、果荚制成腊叶标本。2~10 批按采收日期分别编号 HST-2~HST-10。10 批药材

的采集时间地点如下: HST-1 (20190726 来宾兴宾)、HST-2 (20190901 岑溪安平)、HST-3 (20190914 梧州龙圩)、HST-4 (20200120 河池东兰)、HST-5 (20200616 玉林北流)、HST-6 (20201015 南宁隆安)、HST-7 (20201015 岑溪安平)、HST-8 (20210113 南宁隆安)、HST-9 (20210225 梧州龙圩)、HST-10 (20210227 玉林北流)。10 批药材均存放于广西中医药大学中药制剂共性技术研发重点实验室。

1.1.2 仪器、试剂与试药

仪器: Ni-U型荧光生物显微镜(带 DS-Ri2型成像系统,日本 Nikon 公司); SQP型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); FLBP-200型万能高速粉碎机(上海菲力博食品机械有限公司); HWS-26型电热恒温水浴锅(上海齐欣科学仪器有限公司); PL-FS40T型超声波清洗机(东莞康士洁超声波科技有限公司); LC-2030 Plus型高效液相色谱仪,包括UV型紫外检测器、LabSolution工作站(日本岛津公司)。

试剂: 无水乙醇、乙醇、甲醇、甲酸、丙三醇, 试剂均为分析纯。

试药:三氯化铝、水合氯醛、落新妇苷(纯度:98.14%,批号:MUST-20032410)、槲皮苷(纯度:98.87%,批号:MUST-20121401)、金丝桃苷(纯度:98.49%,批号:MUST-20052210),对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 基原鉴别

根据火索藤的植物学形态特征,结合对照药材、腊叶标本及文献描述进行鉴别。观察内容包括:原植物茎(本质或草质,圆或方茎,表面有无附属物)、叶(叶序、单叶或复叶、有无托叶、有无叶柄、叶形、叶基、叶端、叶缘、叶脉、颜色,表面有无附属物)、花(花序、花萼、花冠、雌蕊、雄蕊、子房上下位)、果实(类型、颜色)、种子(颜色、形状)。1.2.2 性状鉴别

对药材的形状、大小、表面(色泽、有无附属物)、质地、断面(色泽、皮部、木部、射线、髓部)、气味等进行性状观察。

1.2.3 显微鉴别

石蜡组织切片法:取材→固定→水冲洗→脱水→透明→浸蜡→包埋→切片→粘片→脱蜡→染色→烤片→封藏→贴标签(朱利霞等,2017)。

粉末制片法: 照《中国药典(2020年版)》四部(通则2001)显微鉴别法的粉末制片法进行(国家药典委员会,2020)。

1.2.4 薄层鉴别

取火索藤药材粉末1g(过2号筛),置于150 mL 具塞锥形瓶中,加甲醇20 mL,超声(150 W,40 kHz)30分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL 溶解,即得供试品溶液。另取金丝桃苷、槲皮苷、落新妇苷对照品,加甲醇分别制成每1 mL含0.2 mg的溶液,即得对照品溶液。照薄层色谱法(通则0502)试验(国家药典委员会,2020),吸取上述溶液各5 μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲醇-甲酸-水(18:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝乙醇试液,加热挥干,置紫外光灯(365 nm)下检视。

1.2.5 含量测定

1.2.5.1 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-3 C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸水(20: 80); 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL • min⁻¹; 检测波长: 291 nm; 进样量: 10 μL。

1.2.5.2 混合对照品溶液的制备 分别取落新妇苷、槲皮苷对照品适量,精密称定, 置 25~mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得上述 2~种成分质量浓度分别为 0.588~8、 $0.395~5~mg·mL^{-1}$ 的混合对照品母液。取 1~mL 混合对照品母液置于 10~mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用 $0.22~\mu m$ 微孔滤膜滤过,即得上述 2~种成分质量浓度分别为 0.058~88、 $0.039~55~mg·mL^{-1}$ 的混合对照品溶液。

- 1.2.5.3 供试品溶液的制备 取火索藤粗粉 (过 2 号筛) 1 g,精密称定,置带塞锥形瓶中,精密量取 25 mL 甲醇加入,称重,超声处理 1 h,放凉后甲醇补足失重,摇匀,滤过。取滤液过 $0.22~\mu m$ 微孔滤膜即得。
- 1.2.5.4 系统适用性试验 分别取 "1.2.5.2"、"1.2.5.3" 项下混合对照品溶液、供试品溶液 (批号: 20190726) 适量,按 "1.2.5.1"项下色谱条件进样测定,记录色谱图。
- 1.2.5.5 线性关系考察 取 "1.2.5.2" 项下混合对照品溶液 0.1、1 mL 置于 100 mL 容量瓶中,另取 1.0、2.0、3.0、4.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,得到 6 个不同质量浓度的混合对照品溶液,分别取适量上述对照品混合溶液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取滤液按 "1.2.5.1" 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品峰面积为纵坐标,对照品进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。
- 1.2.5.6 精密度试验 取"1.2.5.2"项下混合对照品溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 按"1.2.5.1" 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 计算被测组分峰面积 RSD 值。
- 1.2.5.7 重复性试验 精密称取火索藤粗粉 (过 2 号筛,批号: 20190726),平行 6 份,每份 1g,按"1.2.5.3"项下方法制备供试品溶液,再按"1.2.5.1"项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算被测组分含量及 RSD 值。
- 1.2.5.8 稳定性试验 取 "1.2.5.3" 项下供试品溶液(批号:20190726)适量,分别于室温下放置 0.2.4.8.12.24h 时,按 "1.2.5.1" 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算被测组分含量及 RSD 值。
- 1.2.5.9 加样回收率试验 精密称取火索藤粗粉 (过 2 号筛,批号:20190726),平行 6 份,每份 0.5 g,按照相当于样品中含量 100%的比例分别精密加入对照品适量,按"1.2.5.3"项下方法制备供试品溶液,再按"1.2.5.1"项下色谱条件进样测定,记录被测组分峰面积,计算平均回收率。
- 1.2.5.10 样品含量测定 按"1.2.5.3"项下方法制备供试品溶液,再按"1.2.5.1"项下色谱条件进样测定,以外标法计算各批次落新妇苷、槲皮苷的含量。

2 结果与分析

2.1 基原鉴别

火索藤为多年生粗壮木质藤本,茎圆柱形,直径 0.5~2 cm (可更大),表面棕黄色或黄绿色,具点状皮孔,密被红棕色茸毛;单叶互生,叶柄长 3~9 cm,密被红棕色茸毛,托叶卷须常对生于叶柄基部,初时被毛,渐变秃净,叶近圆形,长 6~14 cm,宽 6~13 cm,叶基心形,先端分裂达叶长的 1/3~1/2,裂片顶端急尖,少为钝圆,全缘,叶缘具红棕色茸毛,基出脉 11 或 13,叶上表面鲜绿色或黄绿色,除脉上有毛外其余无毛,下表面浅绿色或黄绿色,密被红棕色茸毛,脉上毛更密,叶厚纸质;伞房花序顶生或腋生,具花梗,长 2~5 cm,密被茸毛,萼片 5 枚,披针形,外部被毛,花冠 5 枚,白色,匙形,外部被毛,可育雄蕊 3 枚,花丝无毛,雌蕊 1 枚,花柱上半部无毛,子房密被红棕色柔毛,子房上位;荚果条带状,长 15~30 cm,宽 4~6 cm,果皮密被红棕色茸毛,果瓣木质,硬;种子 6~11 枚,椭圆形,扁平,长约 2 cm。见图 1、图 2。



图 1 火索藤原植物

Fig.1 Original plant of Bauhinia aurea



图 2 火索藤腊叶标本

Fig.2 Exsiccata of Bauhinia aurea

2.2 性状鉴别

本品为干燥藤茎,圆柱形,表面褐色或淡黄色,直径 0.5~2 cm (可更大),具点状皮孔,密被红棕色茸毛,断面黄白色,中心具白色"十"字型海绵状髓部,质坚实,难折断,断面不平坦,纤维性强。叶互生,有长柄,密被红棕色茸毛,托叶卷须常对生于叶柄基部,初时被毛,渐变秃净,展平后叶片近圆形,叶基心形,先端分裂达叶长的 1/3~1/2,全缘,叶上表面绿色或绿褐色,除脉上有毛外其余无毛,下表面黄绿色或绿褐色,密被红棕色茸毛,脉上毛更密,叶厚纸质。气微,味微苦、涩。见图 3。

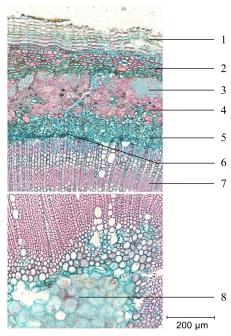


图 3 火索藤原药材

Fig.3 Crude drug of Bauhinia aurea

2.3 显微鉴别

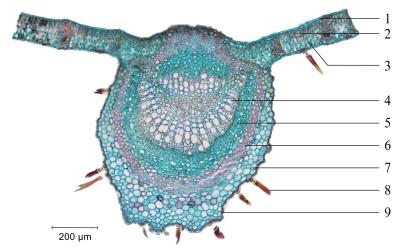
2.3.1 茎横切面 类圆形。直径 0.5~0.8 cm, 外表残存非腺毛,基部略膨大。木栓层由 6-10 列木栓细胞组成,木栓细胞红棕色,类长方形,切向排列整齐紧密,外层木栓细胞多破碎。皮层由 5-10 列薄壁细胞组成,类椭圆形或类长方形,大小不一。皮层内侧可见大量晶纤维及石细胞,木化程度高。韧皮部细胞较小,多不规则,排列紧密。形成层明显,呈环状。木质部发达,由导管、木纤维及木薄壁细胞组成,导管与纤维木化程度高,导管沿径向紧密排列,木射线明显,由一列薄壁细胞组成,径向延长。髓部较小,由类圆形薄壁细胞组成,排列疏松。见图 4。



- 1. 木栓层; 2. 皮层; 3. 纤维束; 4. 石细胞群; 5. 韧皮部; 6. 形成层; 7. 木质部; 8. 髓部。
- 1. Phellem layer; 2. Cortex; 3. Fiber bundles; 4. Stone cells; 5. Phloem; 6. Cambium; 7. Xylem; 8. Pith. 图 4 火索藤茎横切面组织构造(20×)

Fig.4 Tissue structure of transverse section of stem (20×)

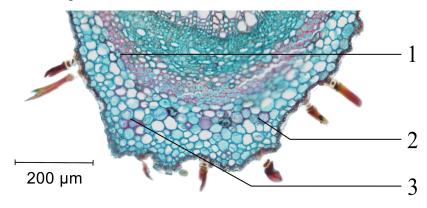
2.3.2 叶横切面 上下表皮各 1 列细胞,角质化,上表皮细胞类长方形,排列整齐紧密,下表皮细胞较小,类圆形。非腺毛为多细胞非腺毛,顶端细胞细长,基部 1-2 枚细胞短缩,于上、下表皮均有分布,其中上表皮仅在主脉处可见,下表皮主脉处毛更密。有的非腺毛 2 根着生于同一根部。气孔存在于下表皮。叶为异面叶,上表皮下方为栅栏组织,由 2 列排列紧密的类长方形薄壁细胞组成,下表皮内为海绵组织,排列较疏松,可见细胞间隙。主脉于下表面凸起。主脉下表皮内为皮层薄壁细胞,细胞较大,常含草酸钙方晶和簇晶。叶中脉由上下两个大小不同的外韧型维管束组成,木质部在内,导管孔径较大,韧皮部在外,细胞小且多不规则,排列紧密,韧皮部内可见多个分泌腔断续排列成环。维管束外方围绕着由纤维束形成的维管束鞘,纤维束周围的薄壁细胞内常含草酸钙方晶,形成晶纤维。见图 5、图 6。



- 1. 上表皮; 2. 栅栏组织; 3. 海绵组织; 4. 木质部; 5. 韧皮束; 6. 纤维束; 7. 皮层; 8. 非腺毛; 9. 下表皮。
- 1. Upper epidermis; 2. Palisade tissue; 3. Spongy tissue; 4. Xylem; 5. Phloem; 6. Fiber bundles; 7. Cortex; 8. Non-glandular hair; 9. Lower epidermis.

图 5 火索藤叶横切面组织构造(20×)

Fig.5 Tissue structure of transverse section of leaf (20×)

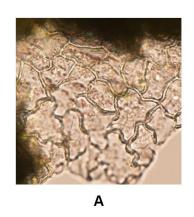


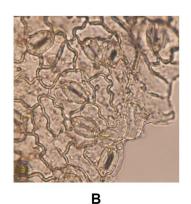
- 1. 晶纤维; 2. 草酸钙簇晶; 3. 草酸钙方晶。
- 1. Crystal fiber; 2. Calcium oxalate cluster crystal; 3. Calcium oxalate square crystal.

图 6 火索藤叶横切面特征结构(20×)

Fig.6 Characteristic structure of transverse section of leaf (20×)

2.3.3 叶表面片 上、下表皮细胞垂周壁波状弯曲,上表皮气孔较少,下表皮分布大量气孔, 气孔类型为平轴式,副卫细胞 2 枚,大小相近。气孔指数约 25%。见图 7。





A. 上表皮; B. 下表皮。

A. Upper epidermis; B. Lower epidermis.

图 7 火索藤叶表面图 (40×)

Fig. 7 Leaf surface of Bauhinia aurea (40×)

2.3.4 粉末片 灰绿色。①淀粉粒较少,单粒、复粒均可见,脐点为点状,单粒类圆形,可见层纹,直径 2.22~4.94 μm,复粒由 2-4 个小分粒组成,直径 10.57~15.97 μm。②草酸钙簇晶散在或见于叶肉细胞内,晶体轮廓较钝,直径 10.7~14.21~31.18~40.02 μm。③草酸钙方晶散在或见于纤维束旁的薄壁细胞内,晶体棱角分明,直径 2.39~6.86~7.61~18.61 μm。④纤维束多见,聚集成束,纤维细胞纺锤形,胞腔小,直径 8~12 μm,有的纤维束旁薄壁细胞内含有草酸钙方晶,形成晶纤维。⑤石细胞多见,或散在或成群,细胞壁全面增厚,纹孔明显,直径 18.16~31.88~50.07~122.27 μm。⑥具缘纹孔导管直径 18.76~39.23 μm。⑦非腺毛众多,为多细胞非腺毛,顶端细胞细长,基部 1-2 枚细胞短缩。直径 12~18 μm,长 151.29~603.91 μm。⑧气孔为平轴式,副卫细胞 2 枚,大小相近,表皮细胞垂周壁波状弯曲,气孔直径 9.38~17.95~23.5 μm。见图 8。



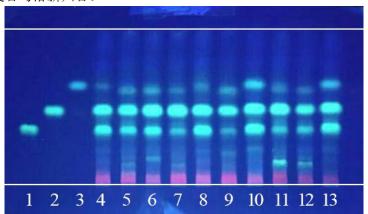
- 1. 淀粉粒; 2. 草酸钙簇晶; 3. 草酸钙方晶; 4. 晶纤维; 5. 石细胞; 6. 具缘纹孔导; 7. 非腺毛; 8. 气孔(平轴式)。
- Starch grain;
 Calcium oxalate cluster crystal;
 Calcium oxalate square crystal;
 Crystal fiber;
 Stone cell;
 Bordered pit vessel;
 Non-glandular hair;
 Stomata.

图 8 火索藤粉末特征图

Fig.8 Characteristic micrographs of Bauhinia aurea powder

2.4 薄层鉴别

在 10 批火索藤药材的薄层色谱中,均出现 3 个清晰斑点,由下至上分别与对照品金丝桃苷、槲皮苷、落新妇苷斑点——对应,且比移值与对照品一致 (R_f分别为 0.35、0.47 和 0.63),比移值均在 0.3~0.7 范围内,斑点清晰、分离度均较好 (见图 9)。提示火索藤中含有金丝桃苷、槲皮苷与落新妇苷。

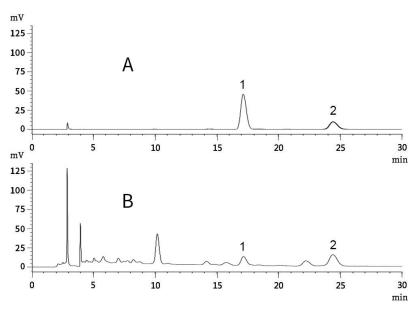


- 1. 金丝桃苷; 2. 槲皮苷; 3. 落新妇苷; 4. 对照药材 (HST-1); 5~13. HST-2~HST-10。
- Hyperoside;
 Quercitin;
 Astilbin;
 Reference crude drug (HST-1);
 5~13. HST-1~HST-10.
 图 9 10 批火索藤薄层色谱图

Fig. 9 Thin layer chromatograms of 10 batches of Bauhinia aurea

2.5 含量测定

2.5.1 系统适用性试验 混合对照品溶液与供试品溶液在相同保留时间处均有相应的色谱峰出现,各色谱峰分离较好;理论板数以槲皮苷峰计应不低于 5 000 (见图 10)。



- 1. 落新妇苷; 2. 槲皮苷。
- 1. Astilbin; 2. Quercitin.

图 10 混合对照品溶液(A)和火索藤供试品溶液(B)高效液相色谱图

Fig.10 High performance liquid chromatograms of mixed-reference solution and sample solution 2.5.2 线性关系考察 以峰面积为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X),分别得到落新妇苷与 槲皮苷的线性方程: Y $_{855$ 归中 = 2 503 158.3 X - 7 305.179 2(r=0.999 6),Y $_{40}$ 由于 110 611.4 X - 5 385.417 4(r=0.999 8),结果表明落新妇苷、槲皮苷进样量分别在 0.005 888~2.355 μ g、0.039

- 55~1.582 μg 与峰面积呈良好的线性关系。
- 2.5.3 精密度试验 落新妇苷、槲皮苷峰面积的 RSD 值分别为 0.26%、0.34% (n=6),表明 仪器精密度良好。
- 2.5.4 重复性试验 落新妇苷、槲皮苷的平均含量分别为 $0.346\,4$ 、 $1.533\,\mathrm{mg}\, \cdot \mathrm{g}^{-1}$,RSD 值分别为 0.97、0.74% (n=6),表明试验所建立的方法重复性良好。
- 2.5.5 稳定性试验 落新妇苷、槲皮苷的平均含量分别为 0.3799、1.623 mg g⁻¹,RSD 值分别为 0.52、1.96% (n=6),表明供试品溶液于室温下放置 24 h 内稳定性良好。
- 2.5.6 加样回收率试验 结果见表 1。火索藤中落新妇苷平均回收率为 96.42%, RSD 值为 2.55%; 槲皮苷平均回收率为 104.2%, RSD 值为 1.79%, 表明试验所建立的方法准确可靠。

表 1 加样回收率试验结果 (n=6)

Table 1 Results of recovery tests (n=6)

	=			`			
被测组分	取样量	样品含量	加入量	测得量	加样回收率	平均加样回	RSD
Components	Amount	Sample	Amount of	Measured	Recovery	收率	(%)
	of sample	content	addition	amount	(%)	Average	
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)		recovery(%)	
落新妇苷	0.500 4	0.173 4	0.176 7	0.346 0	97.70	96.42	2.55
Astilbin	0.500 3	0.173 4	0.176 7	0.350 2	100.1		
	0.500 4	0.173 4	0.176 7	0.344 9	97.10		
	0.500 3	0.173 4	0.176 7	0.340 9	94.82		
	0.500 0	0.173 3	0.176 7	0.337 5	92.98		
	0.500 0	0.173 3	0.176 7	0.342 6	95.85		
槲皮苷	0.500 4	0.767 6	0.761 3	1.550	102.8	104.2	1.79
Quercitin	0.500 3	0.767 5	0.761 3	1.585	107.3		
	0.500 4	0.767 6	0.761 3	1.566	104.9		
	0.500 3	0.767 5	0.761 3	1.551	102.9		
	0.500 0	0.767 0	0.761 3	1.548	102.5		
	0.500 0	0.767 0	0.761 3	1.567	105.1		

2.5.7 样品含量测定 结果见表 2。由表 2 可知,10 批火索藤药材中均含落新妇苷、槲皮苷。槲皮苷含量比较均匀,在 1.364~2.431 mg • g¹之间;而落新妇苷含量相差较大,在 0.02 572~2.912 mg •g¹之间。如结果所示,HST-6、HST-8 的落新妇苷、槲皮苷含量均较高,HST-2 两苷含量均较低。不同批次之间落新妇苷含量相差了 100 多倍,说明火索藤的质量波动较大,应严格控制其质量。

表 2 10 批火索藤中落新妇苷、槲皮苷的含量

Table 2 Contents of astilbin and quercitin in 10 batches of *Bauhinia aurea*

样品批次	落新妇苷	槲皮苷	
Batch	Astilbin	Quercitin	
	(mg • g ⁻¹)	(mg • g ⁻¹)	
HST-1	0.376 3	1.607	
HST-2	0.025 72	1.432	
HST-3	0.252 9	1.992	
HST-4	0.399 5	1.324	
HST-5	0.434 3	1.442	
HST-6	2.912	1.900	
HST-7	0.319 2	1.854	

HST-8	2.820	2.431
HST-9	0.132 1	1.544
HST-10	0.123 6	1.443

3 讨论与结论

本研究所用火索藤粉末均为茎叶质量比为 2: 1 (m 素: m ң=2:1) 的混合粉末。前人对火索藤的研究主要为对其藤茎的研究(尚小雅,2006),未见有对叶的记载。笔者确定研究对象前,分别对茎、叶粗粉进行检测,发现叶中两苷含量明显高于茎,从有效成分含量高的角度出发,故将叶纳入一并研究,确定茎叶混合粉末为研究对象;混合比例选择茎叶质量比2: 1,因该比例较符合火索藤的自然生长状况。药材加工处理时,笔者曾对每批药材的茎、叶分别称重,发现多数批次茎、叶质量比大约为 2:1,固定取材比例,可确保实验的准确性、科学性,减少误差。

薄层鉴别选择金丝桃苷、槲皮苷、落新妇苷作为定性指标,因三种成分均为火索藤的药效相关成分(尚小雅,2006)。据文献报道,金丝桃苷具有抗肝损伤、抗炎、抗菌、镇痛作用(李锦松等,2015;张成伟等,2007),槲皮苷有抗炎镇痛作用(杨琳,2015),落新妇苷有镇痛、抗炎、保肝、护肾作用(李玉琪等,2017)。其中,羊蹄甲属植物含有落新妇苷的报道极少,目前只发现2种,一种是分布在中国的火索藤,另一种是在中国无分布的羊蹄甲属植物 Bauhinia megalandra (李玉琪等,2017; Estrada et al.,2005)。以上提示,落新妇苷为中国境内羊蹄甲属植物火索藤的特有成分,以该成分作为定性指标具有专属性。

含量测定中不同批次火索藤落新妇苷含量差异较大,推测与产地、采收季节及药材生长年份有关。由采集信息可知,HST-2、HST-7为同一产地,HST-3、HST-9为同一产地,HST-5、HST-10为同一产地,但落新妇苷含量仍相差较大,推测落新妇苷作为次生代谢产物在火索藤中的积累需要时间,植物生长年份越长,落新妇苷含量越高。下一步笔者将对此推测开展研究验证。

本文分别从基原、性状、显微、薄层、含量测定 5 个方面对火索藤进行生药学研究,详细描述了火索藤的原植物形态、原药材的性状特征,总结了鉴别要点:火索藤以其茎、叶上密被红棕色茸毛为显著鉴别特征;确定了火索藤石蜡切片、粉末片的显微鉴别特征:草酸钙簇晶、晶纤维、石细胞、具缘纹孔导管、非腺毛、气孔可作为火索藤粉末鉴别的重要依据;以金丝桃苷、槲皮苷、落新妇苷为指标,建立了适用的薄层鉴别方法;又以落新妇苷、槲皮苷为指标,建立了含量测定方法。对于火索藤的同名异物情况,鉴别药材来源准确与否至关重要,本研究的性状鉴别、显微鉴别、薄层鉴别明确了该药材的主要鉴别特征,解决了药材真伪辨别的问题;而含量测定则分析了该药材不同地区临床药效不一的原因(研究中不同产地、批次有效成分含量相去甚远)。综上所述,本研究建立的含量测定方法准确、可靠,可在一定程度上评价各地火索藤的品质,为其质量标准的制定提供科学依据。

参考文献:

Chinese Materia Medica Editorial Committee of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, 1999. Chinese Materia Medica 4[M]. 1st ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 2982. [国家中医药管理局《中华本草》编委会编,1999. 中华本草 4[M]. 1版. 上海: 上海科学技术出版社: 2982.]

ESTRADA O, HASEGAWA M, GONZALEZ-MUJICA F, et al., 2005. Evaluation of flavonoids from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase system[J]. Phytother

- Res, 19(10): 859-863.
- LI SG, CHEN J, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, at al., 2005. Flora of Guangxi volume 2 *Spermatophyta*[M]. 1st ed. Nanning: Guangxi Science and Technology Publishing House: 483. [李树刚主编,陈介等编著,广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所编著, 2005. 广西植物志第 2 卷种子植物[M]. 1 版. 南宁: 广西科学技术出版社: 483.]
- LI JS, CHEN JH, MENG MJ, 2015. Progress on the pharmacological effects and mechanism of hyperoside[J]. J Guangdong Pharm Univ. 31(02): 269-272. [李锦松,陈剑鸿,孟民杰,2015. 金丝桃苷药理作用及其作用机制的研究进展[J]. 广东药学院学报, 31 (02): 269-272.]
- LI YQ, YUAN TT, MAO FY, et al., 2017. Advances of pharmacological activity and plant sources of astilbin[J]. China Pharm, 28(19): 2718-2723. [李玉琪, 袁婷婷, 茅风燕, 等, 落新妇苷的 药理活性及植物来源研究进展[J].中国药房, 2017, 28(19): 2718-2723.]
- National Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China, 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: IV[M]. 1st ed. Beijing: China Medical Science and Technology Press: 59. [中华人民共和国国家药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典(四部)[S]. 1版. 北京:中国医药科技出版社: 59.]
- National Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China, 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: IV[M]. 1st ed. Beijing: China Medical Science and Technology Press: 230. [中华人民共和国国家药典委员会,2020. 中华人民共和国药典(四部)[S]. 1版. 北京:中国医药科技出版社: 230.]
- SHANG XY, 2006. Studies on the chemical constituents of *Bauhinia aurea*, *Meconopsis Quintuplinervia* and the medicinal fungus *Phellinus Igniarius*[D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College: 35-59. [尚小雅, 2006. 红绒毛羊蹄甲、五脉绿绒蒿和药用真菌桑黄化学成分研究[D]. 北京:中国协和医科大学: 35-59.]
- SHUI YM, 2003. Seed plants of Honghe region in SE Yunnan, China[M]. 1st ed. Kunming: Yunnan Science and Technology Press: 183. [税玉民主编, 2003. 滇东南红河地区种子植物 [M]. 1版. 昆明:云南科学技术出版社: 183.]
- XIE ZW, YU YQ, 1996. The name of Chinese medicinal herb first volume[M]. 1st ed. Beijing: People's Medical Publishing House: 436. [谢宗万, 余友芩主编. 全国中草药名鉴上[M]. 1 版. 北京: 人民卫生出版社. 1996, 436.]
- YANG L, 2015. Research development of pharmacology activities of quercitin[J]. Asia-Pac Trad Med, 11(06): 61-63. [杨琳.槲皮苷药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药, 2015, 11 (06): 61-63.]
- ZHANG CW, ZHOU YQ, CHEN L, 2007. Advances of the hyperin pharmacology research[J]. Anhui Med Pharm J, 11(11): 961-963. [张成伟,周亚球,陈磊, 2007. 金丝桃苷药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 11(11): 961-963.]
- ZHENG WJ, Sylva Sinica Editorial Committee, 1985. Sylva Sinica volume 2[M]. 1st ed. Beijing: China Forestry Publishing House: 1244. [郑万钧主编, 中国树木志编辑委员会编, 1985. 中国树木志第 2 卷[M]. 1 版. 北京:中国林业出版社: 1244.]
- ZHU LX, WANG X, LI HX, et al., 2017. Microscopic identification of transverse section of *Atractylodis Rhizoma*[J]. Chin J Pharm Anal, 37(03): 530-534. [朱利霞, 汪旭, 李鸿翔, 等, 2017. 苍术药材的横切面显微鉴别研究[J]. 药物分析杂志, 37 (03): 530-534.]